骨形成蛋白 9 对人膀胱癌 BIU-87 细胞增殖和迁移的影响

苟理尧，刘梦瑶，夏菁，万群，孙恃雷，唐敏，张彦*
（重庆医科大学检验医学院临床检验诊断学教育部重点实验室，重庆 400016）

［摘要］ 目的 人骨形成蛋白 9（Bone Morphogenetic Protein 9,BMP9）对人膀胱癌 BIU-87 细胞增殖和迁移的影响。方法 使用过表达 BMP9 基因的腺病毒（AdBMP9）感染 BIU-87 细胞，采用定量 PCR 检测 BMP9 mRNA 的表达，Western-blot 检测 BMP9 蛋白及 BMP9 下游相关信号通路蛋白的表达；MTT 及集落形成试验检测 BIU-87 细胞增殖能力；划痕愈合试验及 Transwell™ 小室迁移试验检测 BIU-87 细胞迁移能力。结果 感染 AdBMP9 后，BIU-87 细胞中 BMP9 的 mRNA 水平和蛋白水平均显著增加；过表达 BMP9 后，BIU-87 细胞的体外增殖和迁移能力明显增加；Western-blot 结果显示 BMP9 可明显激活 AKT 信号通路。结论 高表达 BMP9 可能通过激活 AKT 信号通路促进人膀胱癌 BIU-87 细胞的增殖和迁移。

［关键词］ 膀胱癌；骨形成蛋白 9（BMP9）；BIU-87 细胞；细胞增殖；细胞迁移

The effects of bone morphogenetic protein 9(BMP9) on the proliferation and migration of human bladder cancer BIU-87 cells

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effects of bone morphogenetic protein 9 (BMP9) on the proliferation and migration of human bladder cancer BIU-87 cells. **Methods** BIU-87 cells were infected with BMP9 recombinant adenovirus(AdBMP9); The mRNA levels of BMP9 were detected by Q-PCR; The BMP9 protein and its downstream associated signaling pathway protein levels were detected by Western-blot; The MTT and colony formation assay were used to test the proliferation of BIU-87 cells; The wound healing and Transwell™ chamber assay were taken to evaluate the migration of BIU-87 cells. **Results** The expression of

---

作者简介：苟理尧（1993-），男，四川南充人，硕士

Tel：18908328359；E-mail：641808114@qq.com

*通讯作者，张彦，E-mail：zy2753@hotmail.com

BMP9 in BIU-87 cells was highly increased after AdBMP9 infection; Forced expression of BMP9 promotes both the proliferation and migration of BIU-87 cells; Western-blot results showed that BMP9 overexpression also increased AKT phosphorylation. **Conclusion** High levels of BMP9 may promote the proliferation and migration of bladder cancer BIU-87 cells by activating the AKT signaling pathway.
[**Key words**] Bladder cancer; BMP9; BIU-87 cells；Cell proliferation; Cell migration;

膀胱癌是男性泌尿生殖系统最常见的恶性肿瘤[1]。我国膀胱癌患者死亡率呈逐年上升趋势，高复发、高转移率及人口老龄化可能是其高死亡率的重要原因[2-3]。因此，探究膀胱癌发生发展的分子机制，对膀胱癌的治疗及预后有重要作用。本课题组在对 Lee Bladder 数据库中 256 例膀胱黏膜标本（其中正常黏膜 68 例，表浅膀胱癌黏膜 126 例，浸润性膀胱癌黏膜 62 例）的基因序列分析比对时，发现膀胱癌细胞中骨形成蛋白 9（Bone Morphogenetic Protein 9,BMP9）的表达水平明显高于正常膀胱黏膜细胞（P=0.007），提示 BMP9 可能参与了膀胱癌的发生发展过程。BMPs 属于转化生长因子β（transforming growth factor beta，TGF-β）超家族，有研究表明，其在大多数肿瘤中均有异常表达[4]。BMP9 又称生长分化因子 2（Growth differentiation factor 2，GDF2）,是 BMP 家族的一员，参与骨形成、胚胎发育、肿瘤发生等多种生物学功能。本课题组前期研究证实 BMP9 可以抑制乳腺癌细胞的增殖与迁移[5]，Herrera B 等证实 BMP9 可以促进肝细胞癌细胞的增殖[6]。同样作为 BMP 家族的成员，BMP2 与 BMP7 被证实可以促进膀胱癌细胞的增殖[7]，而 BMP9 在膀胱癌中的作用鲜有报道。本课题使用腺病毒感染的方法，在较低恶性程度的膀胱癌 BIU-87 细胞中过表达 BMP9，以此观察 BMP9 对膀胱癌细胞增殖及迁移能力的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

人膀胱癌细胞 BIU-87 由重庆医科大学检验医学院保存，腺病毒 Ad-BMP9 和 Ad-GFP 为本实验室保存；引物由金斯瑞生物科技有限公司合成；DMEM 高糖培养基购于 HyClone 公司；胎牛血清购自赛默飞世尔公司；MTT 试剂购于 TaKaRa 公司； Transwell™ 小室购于 MERCK Millipore 生物公司；TRIzol 购于 Invitrogen 公司；逆转录及 PCR 相关试剂购于 TaKaRa 公司；Western blot 及蛋白质提取相关试剂均购自上海碧云天生物技术公司；鼠抗人β-actin 单抗购自 Santa Cruz 公司；兔抗人 BMP9 多克隆抗体购自 Abcam 公司；兔抗人β-catenin 单抗购自 CST 公司； HRP 标记山羊抗兔（鼠）IgG 购自中杉金桥公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 膀胱癌 BIU-87 细胞用 DMEM 高糖培养基（含 100mL/L FBS、1000IU/mL

青霉素、100mg/mL 链霉素）在 37℃、50mL/L 二氧化碳的孵箱中静置培养。每 2d 用胰酶消化传代。

1. 2. 2　重组膀胱癌 BIU-87 细胞的构建　待细胞融合度达 70%~80%时，分别使用相同滴度的腺病毒 Ad-BMP9 和 Ad-GFP 转染 BIU-87 细胞。6~8 小时后，换成不含血清和双抗的 DMEM 培养基。换液 24h 后，使用荧光显微镜检测细胞绿色荧光蛋白的表达情况。换液 36~48h 后，使用 TRIzol 法提取 RNA 做逆转录及 PCR 分析；48~72h 后，收集细胞并提取总蛋白做 Western blot 分析。

1.2.2　实时定量 PCR 检测 BMP9 过表达　Trizol 法分别提取各组细胞 RNA，取 0.15μg 逆转录成 cDNA，进行 Q-PCR 分析。β-actin 正向引物为 5'-GATGACCCAGATCATGTTTGAG-3'，反向引物为 5'-AGGGCATACCCCTCGTAGAT-3'；BMP9 的正向引物为 5'-CTGCCCTTCTTTG-TTGTCTT-3'，反向引物为 5'-CCTTACACTCGTAGGCTTCATA-3'。以β-actin 作为内参对照。

1.2.3　Western blot 检测 BMP9 蛋白过表达　收集各组细胞后，使用蛋白裂解液 4℃裂解 30min，4℃高速离心 15min，提取细胞总蛋白并定量。取 50μg 已加入上样缓冲液及煮沸变性的蛋白，在 120V 电泳分离，210mA 转移蛋白至 PVDF 膜；转膜后用 50 g /L 的脱脂奶粉 37℃封闭 60min；加兔抗人 BMP9 mAb (1∶5000)，小鼠抗人β-actin mAb(1∶1000)，4℃过夜；洗膜 10 min × 3 次，分别加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG 或辣根过氧化物酶标记的山羊抗鼠 IgG(1∶5000)，37℃ 孵育 1 h；使用 1×TBST 洗膜 10 min × 3 次，ECL 显影，最后用 Quantity One4.6.2 软件，以β-actin 为内参对照对各组条带进行分析。

1.2.4　MTT 法检测 BIU-87 细胞增殖情况　取对数生长期 BIU-87 细胞，调整细胞密度为 3×10^4 个/mL，接种于 96 孔板中，每组设 5 个平行孔。使用 AdBMP9 和 AdGFP 分别转染 BIU-87 细胞 6-8h 后，换含 10 mL /L 小牛血清的 DMEM 培养基继续培养；分别于培养 0h、24h、48h、72h 时，每孔加入 10μL 5 mg /mL MTT 溶液， 37℃、50 mL/L CO2 继续培养 4 h；吸尽孔中培养基，加入 DMSO150μL /孔，摇床混匀 10 min，检测 492nm 波长的吸光度(A) 值。

1.2.5　集落生成实验　使用重组腺病毒 AdBMP9 和 AdGFP 分别转染 BIU-87 细胞 6-8h 后，换成不含血清和抗生素的 DMEM 培养基。继续培养 24h 后，胰酶消化并收集细胞。按 1×10^3/孔的密度接种于 6 孔板。培养 8 天后，使用多聚甲醛固定细胞并用结晶紫染液使细胞着色，观察集落生成情况。

1.2.6　划痕愈合试验　按 5×10^4 个/孔的密度将 BIU-87 细胞接种于 6 孔板，待细胞融合度达 80%时，分别加入腺病毒 AdBMP9 和 AdGFP 转染 BIU-87 细胞，6-8 h 后换液。24h 后吸尽培养基，使用小枪头十字交叉划痕，PBS 洗涤 2 次，加入不含血清和抗生素的 DMEM 培养基继续培养，分别于培养 0 和 12h 时，拍照观察同一位置划痕愈合情况，并计算平均划痕愈合率。

1.2.7　Transwell™ 小室试验　用重组腺病毒 AdBMP9 和 AdGFP 分别转染 BIU-87 细胞 6-8h 后，换成不含血清和抗生素的 DMEM 培养基。继续培养 24h 后，胰酶消化并收集细胞，使用无血清无抗生素的 DMEM 培养基制成细胞密度为为 1×10^5 个/mL 的单细胞悬液。小室上

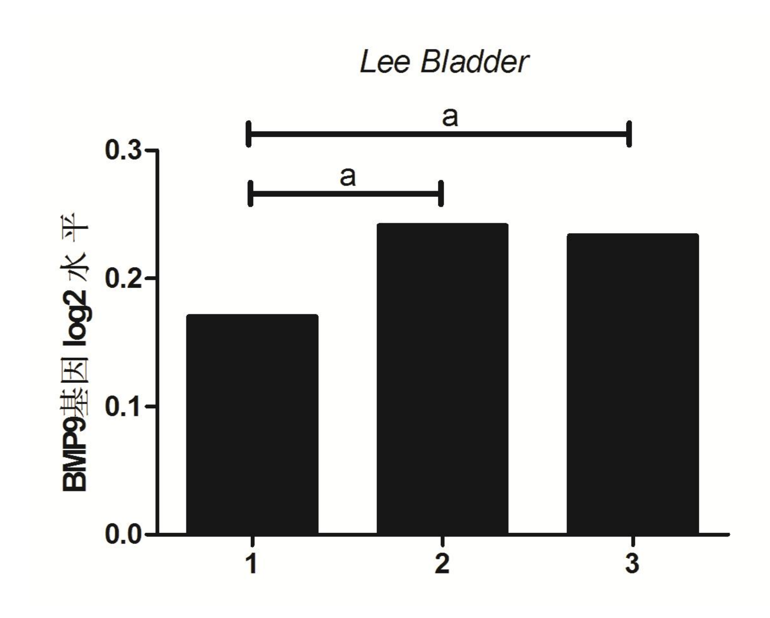
室加 200μL 细胞悬液，下室加 600μL 含 100 mL /L 胎牛血清的 DMEM 培养基。培养 24h 后，取出小室，用棉签擦去小室上层未穿膜的细胞。使用多聚甲醛固定细胞并用结晶紫染液使细胞着色，显微镜下观察并计数穿膜细胞数。

1.2.8 每组实验均重复至少 3 次，采用 GraphPad Prism 5 统计软件进行统计学分析，组间比较采用 student-t 统计分析，P＜0. 05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2. 1 BMP9 在正常膀胱黏膜与膀胱癌中的表达差异

对 Oncomine 肿瘤相关基因数据库（www.oncomine.org）中的膀胱癌子数据库 *Lee Bladder* 中 256 例膀胱黏膜标本（其中正常黏膜 68 例，表浅膀胱癌黏膜 126 例，浸润性膀胱癌黏膜 62 例）做基因比对分析发现，BMP9 基因在膀胱癌细胞中的表达水平（包括浸润型膀胱癌细胞和基底型膀胱癌细胞）高于正常膀胱细胞（P=0.007，图 1），提示 BMP9 可能参与膀胱癌的发生发展过程。

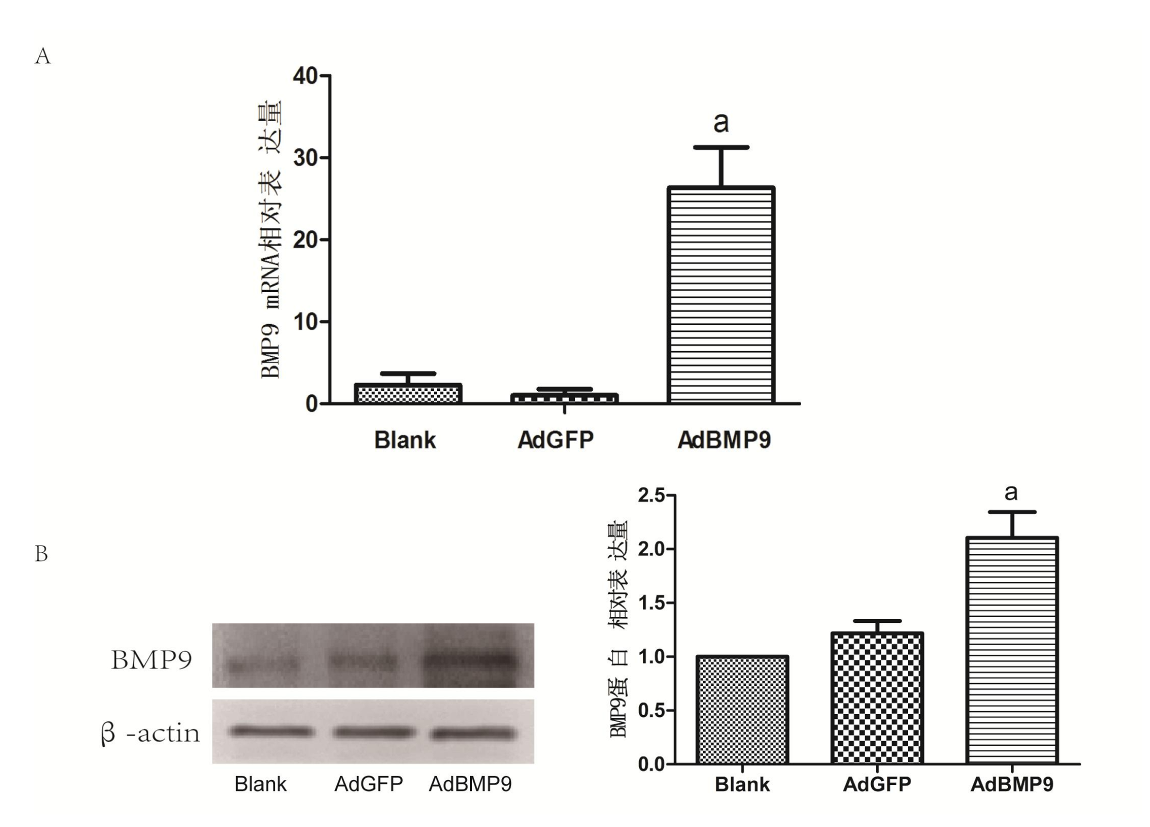


BMP9 基因在 256 例膀胱黏膜标本中的表达差异。1：正常膀胱黏膜 2：表浅型膀胱癌 3：浸润型膀胱癌。[a]*P*<0.05（group 1 vs. group 2 or 3）。

图 1 BMP9 在正常膀胱黏膜与膀胱癌中的差异表达

2. 2 BIU-87 细胞成功过表达 BMP9

RT-PCR 结果显示，与空白组和 AdGFP 组相比，过表达 BMP9 组膀胱癌细胞 BIU-87 细胞的 BMP9 的 mRNA 水平明显升高（P<0.05，图 2A）。Western blot 结果显示，过表达 BMP9 组 BMP9 蛋白表达水平也明显高于空白组和 AdGFP 组（P<0.05，图 2B），说明 AdBMP9 过表达系统在膀胱癌 BIU-87 细胞中成功构建。



A：RT-PCR 检测 BIU-87 细胞中 BMP9 mRNA 的表达；B：Western blot 法检测 BMP9 蛋白的表达。Blank：空白对照组；AdGFP：绿色荧光素对照组；AdBMP9：过表达 BMP9 组。[a]P<0.05 (AdBMP9 vs. Blank or AdGFP)。

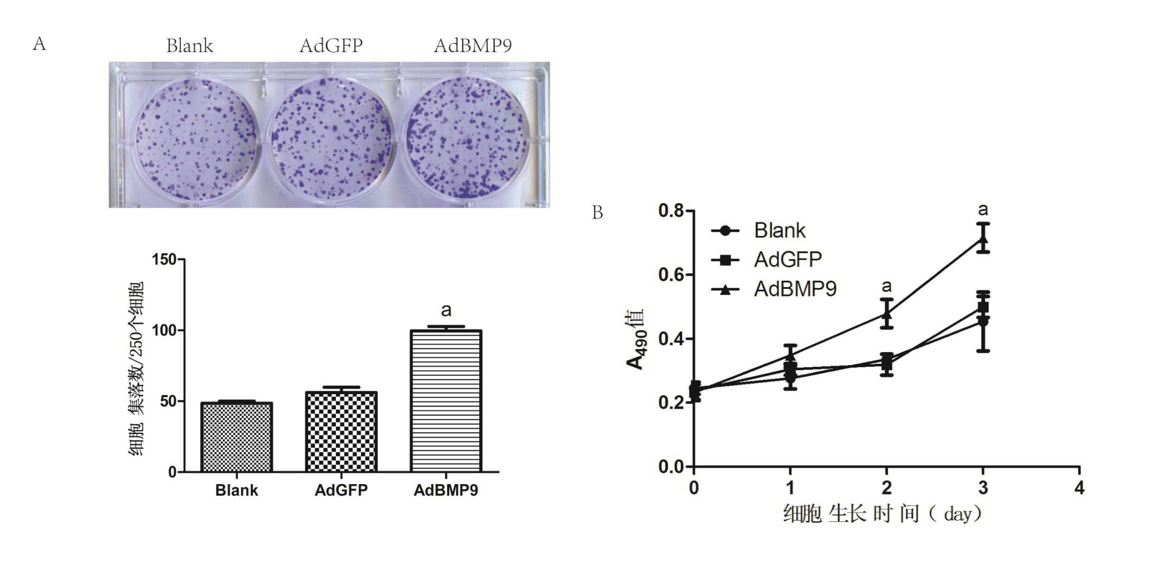
图 2 重组 BIU-87 细胞的构建

2.3 过表达 BMP9 促进膀胱癌 BIU-87 细胞增殖

集落形成实验显示，与空白组和 AdGFP 组相比，过表达 BMP9 组膀胱癌 BIU-87 细胞集落形成能力明显增加（P<0.05，图 3A），且过表达 BMP9 组 BIU-87 细胞形成的单个集落大小也大于对照组和空白组。MTT 试验结果显示，从第 48 小时开始，过表达 BMP9 的 BIU-87 细胞吸光度值明显高于对照组和空白组（P<0.05，图 3B），提示 BMP9 可以促进膀胱癌 BIU-87 细胞的增殖。

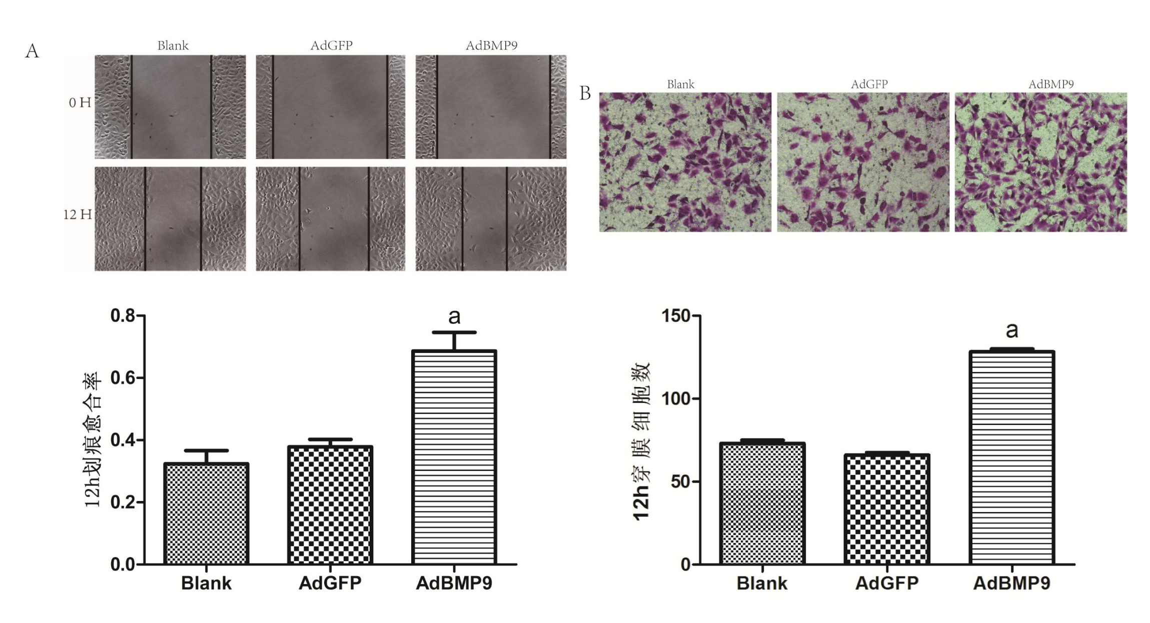
2.4 过表达 BMP9 促进膀胱癌 BIU-87 细胞的迁移

划痕愈合实验显示，过表达 BMP9 的 BIU-87 细胞 12 小时划痕愈合率较空白组和 AdGFP 对照组有较大提高（P<0.05，图 4A）。Transwell 小室实验显示，与空白组和 AdGFP 组相比，过表达 BMP9 组 BIU-87 细胞穿膜细胞数明显较（P<0.05，图 4B），提示 BMP9 可以促进膀胱癌 BIU-87 细胞的横向和纵向迁移能力。



A：集落形成试验检测膀胱癌 BIU-87 细胞的增殖。B：MTT 法检测膀胱癌 BIU-87 细胞的增殖。Blank：空白对照组；AdGFP：绿色荧光素对照组；AdBMP9：过表达 BMP9 组。[a]$P<0.05$（AdBMP9 vs. Blank or AdGFP）。

图 3 BMP9 促进膀胱癌 BIU-87 细胞的增殖



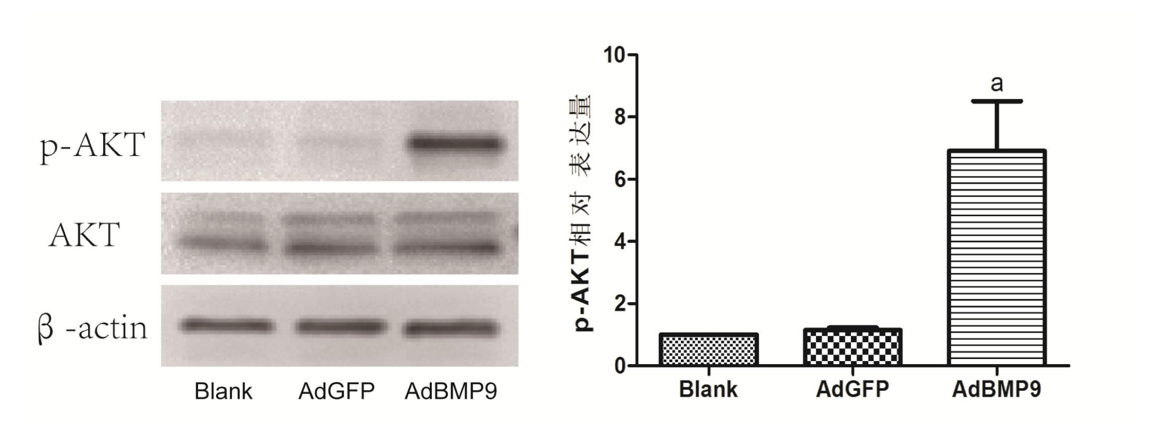
A：划痕愈合试验检测膀胱癌 BIU-87 细胞的横向迁移能力；B：Transwell 迁移试验检测膀胱癌 BIU-87 细胞的纵向迁移能力。Blank：空白对照组； AdGFP：绿色荧光素对照组；AdBMP9：过表达 BMP9 组。[a]$P<0.05$ (AdBMP9 vs. Blank or AdGFP)。

图 4 BMP9 促进膀胱癌 BIU-87 细胞的迁移

2.5 BMP9 活化 AKT 信号通路

有文献报道 AKT 信号通路的激活是膀胱癌发生发展的重要因素，于是本研究用 Western-blot 检测 AKT 蛋白的表达和激活。如图 5 所示，与空白组和 AdGFP 组相比，过表达 BMP9 后，膀胱癌 BIU-87 细胞的总 AKT 蛋白表达量没有明显

变化，但磷酸化 AKT 蛋白的水平显著提高（P<0.05，图 5），提示 BMP9 可能通过激活 AKT 信号通路促进膀胱癌 BIU-87 细胞的增殖和迁移。



Western-blot 检测 AKT 蛋白的表达和激活。Blank：空白对照组；AdGFP：绿色荧光素对照组；AdBMP9：过表达 BMP9 组。$^{a}P<0.05$ (AdBMP9 vs. Blank or AdGFP)。

图 5 BMP9 激活 BIU-87 细胞的 AKT 信号通路

3　总结

作为泌尿系统最常见的恶性肿瘤，膀胱癌的治疗手段以手术切除原发病灶以及术后化疗为主。但由于膀胱癌发病隐匿，新发现的膀胱癌往往已经伴有肌层浸润甚至远处转移[8-10]。有研究资料显示，2014 年，美国 74690 例新发膀胱癌患者中有 15580 例患者因膀胱癌死亡[11]。高远处转移率及复发率是造成膀胱癌高致死率的主要原因[12-13]，50%的肌层浸润性膀胱癌患者在确诊后 3 年内发生转移和死亡[14]。因此，对膀胱癌的生长及转移机制的研究尤为重要。

本课题通过对数据库中膀胱癌细胞与正常膀胱黏膜细胞做基因序列比对，发现 BMP9 在膀胱癌细胞中有高表达（P=0.007），提示 BMP9 可能参与了膀胱癌细胞的生长转移等生物学活动。由于数据库结果显示 BMP9 在膀胱癌细胞中的表达水平并无明显差异，为研究 BMP9 在膀胱癌细胞中可能存在的促进作用，我们使用重组腺病毒 AdBMP9 转染分化程度较高的膀胱癌 BIU-87 细胞，研究 BMP9 对 BIU-87 细胞生物学活动的影响。首先使用实时 RT-PCR 和 Western blot 分别检测过表达 BMP9 后膀胱癌细胞中 BMP9 基因与蛋白水平的变化，结果显示，过达 BMP9 组与对照组相比，BMP9 的 mRNA 与蛋白水平都有明显上升，证实 BMP9 在膀胱癌 BIU-87 细胞中成功过表达；MTT 试验与集落形成试验结果显示，过表达 BMP9 后，BIU-87 细胞的增殖能力明显上升；划痕愈合试验与 Transwell 试验表明，过表达 BMP9 可以促进 BIU-87 细胞的横向和纵向迁移能力。

已有文献报道，AKT 信号通路在促进膀胱癌细胞的增殖和迁移中发挥重要作用[15-17]，而在膀胱癌 BIU-87 细胞中过表达 BMP9 后，AKT 的磷酸化明显高于

对照组，提示 BMP9 可能通过活化 AKT 信号通路促进膀胱癌细胞的增殖迁移。在后续研究中，我们将进一步探讨 BMP9 促进膀胱癌细胞增殖迁移的机制。近年来发现某些非编码 RNA 在肿瘤细胞的发生发展过程中起到关键作用，一些 miRNAs(如 miRNA-100[18-19]，miRNA-214[20-21]等)和 LncRNAs(如 Lnc-n336928[22]，ANRIL[23]，UCA1[24]等)被证实可以调节膀胱癌细胞增殖与侵袭的过程，并且活化的 AKT 信号通路对膀胱癌细胞增殖侵袭的促进作用，往往都需要 miRNAs 与 LncRNAs 的参与[25-27]，所以在后续实验中，我们将重点研究 BMP9 与上述非编码 RNA 之间的关系，以进一步地研究 BMP9 促进膀胱癌细胞增殖迁移的机制。

BMP9 对膀胱癌促进作用的发现，可以为临床上膀胱癌的治疗和诊断提供新的思路。理论上，膀胱癌病人血清中高浓度的 BMP9 可能预示着该病人的膀胱癌细胞有着更高的增殖转移能力，而病灶局部使用抗 BMP9 的药物可能对膀胱癌细胞有抑制作用，以上猜想将在后续试验中进行验证。

综上，本课题通过在膀胱癌 BIU-87 细胞中过表达 BMP9，证实 BMP9 可以促进 BIU-87 细胞的增殖与迁移，且该促进作用可能是通过活化 AKT 信号通路实现的。

参考文献

[1] Siegel R L, Miller K D, Jemal A. Cancer statistics, 2016[J]. Ca A Cancer Journal for Clinicians, 2016, 66(1):7.

[2] 韩苏军，张思维，陈万青，等．中国膀胱癌发病现状及流行趋势分析[J]．癌症进展，2013，11(1):89-95.

Han SJ, Zhang SW, Chen WQ, et al. Analysis of the status and trends of bladder cancer incidence in China[J]. Oncology Progress, 2013, 11(1):89-95.

[3] 韩苏军，张思维，陈万青,等. 中国膀胱癌死亡现状及流行趋势分析[J]. 现代泌尿外科杂志, 2013, 18(3):228-232.

Han SJ, Zhang SW, Chen WQ, et al. Analysis of the status quo and trends: mortality in patients with bladder cancer in China[J], Journal of Modern Urology, 2013, 18(3):228-232.

[4] Alarmo E L, Kallioniemi A. Bone morphogenetic proteins in breast cancer: dual role in tumourigenesis?[J]. Endocrine-related cancer, 2010, 17(2):R123.

[5] Wang K, Feng H, Ren W, et al. BMP9 inhibits the proliferation and invasiveness of breast cancer cells MDA-MB-231[J]. Journal of Cancer Research & Clinical Oncology, 2011, 137(11):1687-1696.

[6] Herrera B, García-Álvaro M, Cruz S, et al. BMP9 is a proliferative and survival factor for human hepatocellular carcinoma cells[J]. Plos One, 2013, 8(7):e69535.

[7] Kuzaka B, Janiak M, Włodarski K H, et al. Expression of bone morphogenetic protein-2 and

-7 in urinary bladder cancer predicts time to tumor recurrence[J]. Archives of Medical Science, 2015, 11(2):378-384.
[8] Soloway M S. Editorial comment on: EAU guidelines on non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder[J]. European Urology, 2008, 54(2):313.
[9] van Rhijn B W, Burger M Y. Recurrence and progression of disease in non-muscle-invasive bladder cancer: from epidemiology to treatment strategy[J]. European Urology, 2009, 56(3):430.
[10] Yeung C, Dinh T, Lee J. The health economics of bladder cancer: an updated review of the published literature[J]. Pharmacoeconomics, 2014, 32(11):1093-1104.
[11] Siegel R, Ma J, Zou Z, et al. Cancer statistics, 2014.[J]. Ca A Cancer Journal for Clinicians, 2014, 64(1):9.
[12] Xue M, Xu L I, Wenjing W U, et al. Upregulation of long non-coding RNA urothelial carcinoma associated 1 by CCAAT/enhancer binding protein α contributes to bladder cancer cell growth and reduced apoptosis[J]. Oncology Reports, 2014, 31(5):1993-2000.
[13] Jacobs B L, Lee C T, Montie J E. Bladder Cancer in 2010: How Far have We Come?[J]. Ca A Cancer Journal for Clinicians, 2010, 60(4):244-272.
[14] 葛仙伟, 黄后宝. 膀胱癌相关分子生物学研究现状[J]. 承德医学院学报, 2017, 34(4):329-332.
Ge XW, Huang HB. Current status of molecular biology in bladder cancer[J]. Journal of Chengde Medical College, 2017, 34(4):329-332.
[15] Wu W, Zhang S, Li X, et al. Ets-2 Regulates Cell Apoptosis via the Akt Pathway, through the Regulation of Urothelial Cancer Associated 1, a Long Non-Coding RNA, in Bladder Cancer Cells[J]. Plos One, 2013, 8(9):e73920-e73920.
[16] Chen W, Luo K, Ke Z, et al. TBK1 Promote Bladder Cancer Cell Proliferation and Migration via Akt Signaling[J]. Journal of Cancer, 2017, 8(10):1892-1899.
[17] Chen Z. B7-H3 Promotes the Migration and Invasion of Human Bladder Cancer Cells via the PI3K/Akt/STAT3 Signaling Pathway[J]. Journal of Cancer, 2017, 8(5):816-824.
[18] 马明, 金国江, 付立业. 上调 microRNA-100 对结肠癌 HT-29 细胞增殖和侵袭的影响[J]. 现代肿瘤医学, 2016, 24(7):1031-1033.
Ma M, Jin GJ, Fu LY. The effect of up -regulating microRNA -100 in colon cancer HT -29 cells on prolifera-tion and apoptosis[J]. Journal of Modern Oncology, 2016, 24(7):1031-1033.
[19] Xu C, Zeng Q, Xu W, et al. miRNA-100 Inhibits Human Bladder Urothelial Carcinogenesis by Directly Targeting mTOR[J]. Molecular Cancer Therapeutics, 2013, 12(2):207.

[20] Wang J, Zhang X, Wang L, et al. Downregulation of urinary cell - free microRNA - 214 as a diagnostic and prognostic biomarker in bladder cancer[J]. Journal of Surgical Oncology, 2015, 111(8):992.
[21] Xing J Z, Hua Y, Cheng W Z, et al. Dysregulation of miR-15a and miR-214 in human pancreatic cancer[J]. Journal of Hematology & Oncology, 2010, 3(1):46.
[22] Tao C, Wu C, Hu H. AB266. Expression of long noncoding RNA lncRNA-n336928 is correlated with tumor stage and grade and overall survival in bladder cancer[J]. Biochemical & Biophysical Research Communications, 2015, 468(4):666-670.
[23] Zhu H, Li X, Song Y, et al. Long non-coding RNA ANRIL is up-regulated in bladder cancer and regulates bladder cancer cell proliferation and apoptosis through the intrinsic pathway.[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 467(2):223-228.
[24] Wang Y, Chen W, Yang C, et al. Long non-coding RNA UCA1a(CUDR) promotes proliferation and tumorigenesis, of bladder cancer[J]. International Journal of Oncology, 2012, 41(1):276.
[25] Liang Z, Wang X, Xu X, et al. MicroRNA-608 inhibits proliferation of bladder cancer via AKT/FOXO3a signaling pathway[J]. Molecular Cancer, 2017, 16(1):96.
[26] Li Y, Shan Z, Liu C, et al. MicroRNA-294 Promotes Cellular Proliferation and Motility through the PI3K/AKT and JAK/STAT Pathways by Upregulation of NRAS in Bladder Cancer[J]. Biochemistry Biokhimiia, 2017, 82(4):474.
[27] Wu W, Zhang S, Li X, et al. Ets-2 Regulates Cell Apoptosis via the Akt Pathway, through the Regulation of Urothelial Cancer Associated 1, a Long Non-Coding RNA, in Bladder Cancer Cells[J]. Plos One, 2013, 8(9):e73920-e73920.